DOI:10.11931/guihaia.gxzw201910017

荔枝(*Litchi chinesis* Sonn.)果实酸性转化酶 *LcSAI* 生物信息学和表达分析

董晨，魏永赞，王弋，郑雪文，李伟才*
（中国热带农业科学院南亚热带作物研究所/农业部热带果树生物学重点实验室，广东 湛江 524091）

摘　要：酸性转化酶作为蔗糖代谢中的关键酶，在还原糖积累型荔枝中表达及酶活性显著高于蔗糖积累型荔枝。为了全面了解酸性转化酶的生物学特征，本研究通过运用生物信息学方法对荔枝果实酸性转化酶 LcSAI 基本的理化性质、蛋白二级结构、亲水性/疏水性、跨膜结构域、信号肽、磷酸化位点、保守结构域、系统进化进行系统的分析；利用 qRT-PCR 技术对 *LcSAI* 在妃子笑不同组织和果实不同发育阶段进行表达分析。结果表明：荔枝果实酸性转化酶为定位于液泡的亲水性不稳定蛋白，无信号肽，其蛋白的二级结构主要有无规则卷曲和延伸链构件，并散布于整个蛋白；在 N-端含有一个跨膜区，包含两个保守结构域，位于 N-端的 Pfam DUF3357 结构域和 Glyco_32 结构域，属于糖基水解酶基因家族 32 超家族；系统进化表明与龙眼酸性转化酶基因同源，不同组织间 *LcSAI* 表达水平为雄花>根>嫩茎>种子>嫩叶>雌花>果皮>老叶，果实不同发育阶段 *LcSAI* 表达具有特异性。本研究为深入研究 *LcSAI* 果实酸性转化酶基因调控蔗糖代谢途径机理提供数据依据。

关键词：荔枝, 酸性转化酶, 生物信息学, 表达分析

Bioinformatics and expression analysis of acid invertase *LcSAI* of *Litchi chinesis* Sonn.

Dong Chen，Wei Yongzan，Wang Yi，Zheng Xuewen，Li Weicai*
(*Institute of South Subtropical Corp Research, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Key Laboratory of Tropical Fruit Biology, Ministry of Agriculture*, Zhanjiang 524091, Guangdong, China)

Abstract: As a key enzyme in sucrose metabolism, acid invertase expression and enzyme activity was significantly higher in reducing sugar accumulation litchi than in sucrose accumulation litchi. In order to fully understand the biological characteristics of acid invertase, this study systematically analyzed the basic physical and chemical properties, protein secondary structure, hydrophilic/hydrophobic, transmememal domain, signal peptide, phosphorylation site, conserved domain and phylogenetic evolution of LcSAI by bioinformatics, qRT-PCR was used to analyze the expression of LcSAI in different tissues and fruits at different developmental stages. The results showed that the acid invertase of litchi fruit was a hydrophilic unstable protein localized to vacuole, and there was no signal peptide. The secondary structure of the protein mainly consisted of irregularly coiled and extended chain members, which were scattered throughout the protein. LcSAI contained a transmembrane region at the N-terminus, including two conserved domains, the N-terminal Pfam DUF3357

基金项目：国家荔枝龙眼产业技术体系（CARS-33-21）。

作者简介：董晨（1981-），女，河南滑人，硕士，副研究员，主要从事热带果树分子生物学研究，（ E-mail） nysdongchen@sina.com。

***通信作者：**李伟才，研究员，主要从事果实学研究，（E-mail）lwc-619@163.com。

domain and the Glyco_32 domain, belonging to the glycosyl hydrolase gene family 32 superfamily. phylogenetic evolution indicates LcSAI homology with the longan acid invertase gene, The *LcSAI* expression levels were male flower > root > young stem > seed > young leaf > female flower > peel > mature leaf, The expression of *LcSAI* in different stages of fruit development is specific, *LcSAI* expression reached a peak in the second week, then *LcSAI* expression dropped sharply in the third week, gradually increased in the fourth and fifth weeks, and decreased to a minimum in the eighth week of fruit development. This study provides a theoretical reference for further study of the mechanism of *LcSAI* fruit acid invertase gene regulation of sucrose metabolism pathway.

Key words: Litchi, acid invertase, bioinformatics, expression analysis

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)是岭南名贵水果，有“岭南果王”之美誉。糖与果实产量和质量密切相关，在果实生成发育成熟过程中起关键作用。荔枝为糖直接积累型果实，果实中主要糖组分有蔗糖、葡萄糖和果糖；这三种糖中果糖甜度最高，其甜度约是葡萄糖的 3 倍，蔗糖的 1.8 倍，因此它们的含量及比例与果实的甜度和风味有着密切关系，研究果实糖组分形成特点有助于提高果实内在品质。荔枝果肉含糖量高，而且品种间存在一定的差异，‘糯米糍’果肉含糖量占鲜重的 15.3%或干重的 91.3%，‘妃子笑’则占鲜重的 14.6%或干重的 78.7%。

荔枝不同品种的糖分构成不同，实质是不同酶系统调控的结果，而酶系统及其活性与基因表达相关。不同荔枝品种积累的主要糖分不同，如‘妃子笑’和‘黑叶’以积累还原糖为主，‘无核荔’和‘糯米糍’以积累蔗糖为主；这些糖组分受蔗糖代谢相关酶活性的调控(王惠聪等, 2003; 杨转英等, 2012)。研究表明转化酶是分解蔗糖成为还原糖和果糖的关键酶之一，以积累蔗糖为主的‘糯米糍’荔枝在果实成熟过程中几乎检测不到酸性转化酶活性，而以积累还原糖为主的‘妃子笑’则保持了高的酸性转化酶活性，说明酸性转化酶活性可能与荔枝糖的积累类型密切相关(Yang et al., 2013)，因此研究酸性转化酶在调控荔枝果实糖积累中的作用机制具有重要的意义。

Sturm 等(1990)首次从胡萝卜中克隆到酸性转化酶基因，随着高通量测序技术及生物信息学的飞速发展，目前已从番茄（孙威等，2009）、甘蔗（牛俊奇等，2013）、番木瓜（严丹凤等，2014）、柑橘（安新民等，2001）、苹果（安新民等，2003）、枸杞（王丽娟等，2014）、石斛（孟衡玲等，2017）等植物中分离出酸性转化酶基因。然而目前关于荔枝酸性转化酶系统分析尚未见报道，基于课题组妃子笑果实不同发育阶段果肉转录组数据库（未发表），检索到酸性转化酶基因（Unigene0007246），该基因含有完整的 ORF，NCBI Blast 比对结果表明该基因与 Yang 等（2013）从糯米糍假种皮中克隆的荔枝酸性转化酶基因 AFP23357.1 同源性为 97.98 %，存在 13 个单核苷酸差异，命名为 *LcSAI*。为了全面了解酸性转化酶的生物学特征，本研究利用生物信息学及 qRT-PCR 技术探究荔枝果实酸性转化酶 *LcSAI* 基因的基本理化性质、亚细胞定、蛋白二级结构、亲疏水性、信号肽、跨膜结构、系统进化及在不同组织及果实不同发育阶段表达情况进行系统的分析，旨在为下一步对 *LcSAI* 功能研究及其应用提供数据支持。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为妃子笑荔枝，采自中国热带农业科学院南亚热带作物研究所荔枝种植园。妃子笑荔枝果实酸性转化酶基因 *LcSAI*（Unigene0007246）通过课题组妃子笑果实不同发育阶段果肉转录组数据库搜索查询 Unigene0007246 全长为 2 226 bp，CDS 全长为 1929 bp，编码 643 aa。

1.2 荔枝酸性转化酶 LcSAI 生物信息学分析

LcSAI 的基本理化性质通过在线软件 ExPASY ProtParam tool (https://web.expasy.org/protparam/)预测分析；LcSAI 的亚细胞定位通过在线工具 Plant-mPLoc (http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Plant-multi/)分析；LcSAI 蛋白的二级结构预测通过在线工具 SOPMA SECONDARY STRUCTURE PREDICTION METHOD (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?pa ge=npsa_sopma.html)进行；LcSAI 蛋白的亲疏水性通过在线软件 ExPASY ProtScale (https://web.expasy.org/protscale/)分析；LcSAI 蛋白信号肽预测通过在线工具 SignalP 4.1 Server (http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/)分析；LcSAI 蛋白的跨膜结构通过在线软件 TMHMM Server v. 2.0(http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/)分析，LcSAI 蛋白的磷酸化位点采用在线软件 NetPhos (http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/)分析，LcSAI 蛋白的保守结构域利用在线工具 NCBI CONSERVED Domain Architecture Retrieval Tool (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/lexington/lexington.cgi?cmd=rps)分析，通过 NCBI blast 比较荔枝酸性转化酶 LcSAI 序列的同源性，进一步利用 Clustalx 1.83 软件对候选序列进行多重序列比对后采用 MEGA6.0 软件 Neighbor-Joining 法构建系统进化树，分析与其他物种的亲缘关系。

1.3 荔枝酸性转化酶 LcSAI 不同组织和果实发育阶段表达分析

采集妃子笑不同组织样品，采集新抽梢的幼叶、老熟梢的成熟老叶、花期雄蕊、雌蕊、幼根、成熟果的果皮、果肉和种子；果实不同发育阶段表达分析采集果肉开始时间为 2019 年 4 月 11 日（1 w），每周取样，直到果实成熟 2019 年 5 月 30 日(8 w)，共 8 周；经液氮速冻后置-80℃冰箱保存备用。不同组织 RNA 提取使用华越洋植物 RNA 提取试剂盒，利用 M-MLV 逆转录酶（TaKaRa 公司）合成 cDNA 第一链。*LcSAI* 荧光定量引物序列为 *LcSAI* qFW5'-TCAGCAGGTGAGGAAGAAGG-3'，*LcSAI* qRE 5'-TCAGGAGCCAATGTTGACCT-3'；*LcActin*FW5'-GTGGTTCTACTATGTTCCCTG，*LcActin*RE 5'-CTCGTCGTACTCATCCTTTG；引物序列委托广州艾基生物技术有限公司合成。使用仪器 Roche 480 II，SYBR Premix Ex TaqTM (TaKaRa) 试剂盒，采用 96 孔板，qRT-PCR 反应体系为 20 μL，PCR 产物的长度为 200 bp。荧光定量 PCR 的反应程序如下：94 ℃ 预变性 2 min; 94 ℃ 15 s， 58 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s， 共 40 个循环。每个样品进行 3 次重复。 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目标基因相对表达量。

2 结果与分析

2.1 LcSAI 蛋白基本理化性质和二级结构分析

通过 ExPASY 预测 LcSAI 的基本理化性质，LcSAI 编码 643 个氨基酸，蛋白的分子量为 72005.18，分子方程式为 $C_{3270}H_{4944}N_{850}O_{962}S_{14}$，理论等电点为 5.18，半衰期为 30 h，不稳定指数为 39.30，为稳定蛋白，脂肪指数为 83.69，亲水性的平均值为-0.262，为亲水蛋白。LcSAI 蛋白的氨基酸组成中亮氨酸(Leu)含量最高，高达 9.2%；而半胱氨酸(Cys)含量最低，低至 0.5%。从整个氨基酸带电荷情况来看，带负电荷氨基酸残基(Asp+Glu)总数为 71 个，带正电荷氨基酸残基(Arg+Lys)总数为 47 个(图 1)。Plant-mPLoc 预测亚细胞定位 LcSAI 定位于液泡。LcSAI 蛋白质二级结构由α-螺旋、β-折叠、无规则卷曲和延伸链组成(图 2)，其中无规则卷曲比例最高(359 aa, 55.83%)，其次为延伸链(152 aa, 23.64%)、α-螺旋(94 aa, 14.62%)，β-折叠比例最低(38 aa,5.91%)。

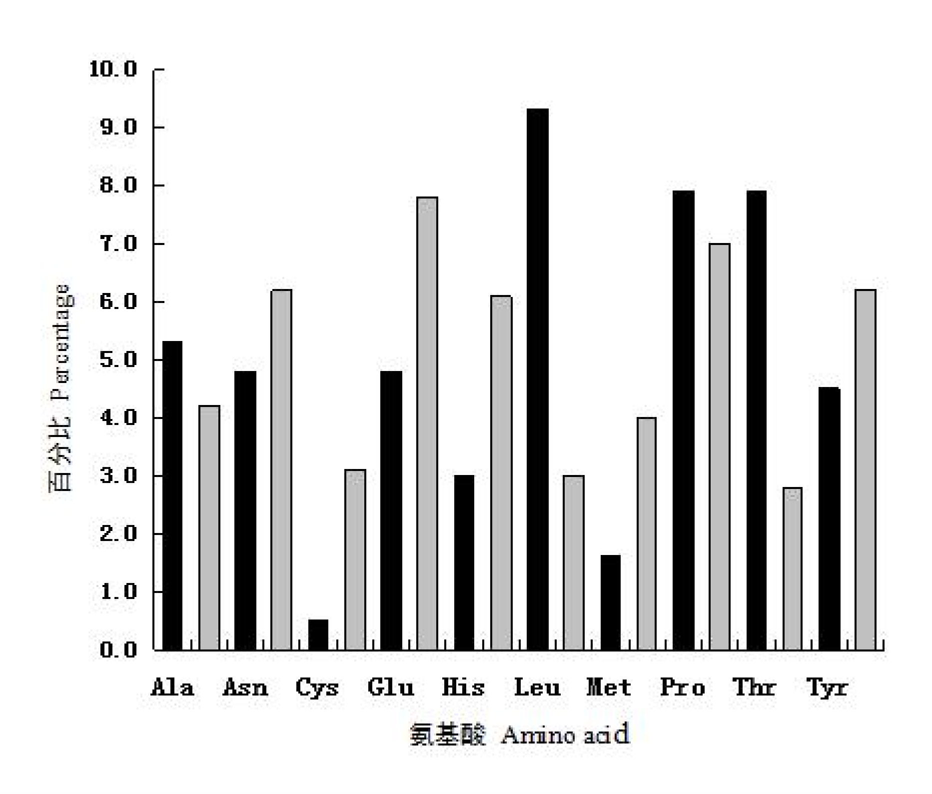


图 1 LcSAI 氨基酸组成

Fig.1 LcSAI amino acid composition

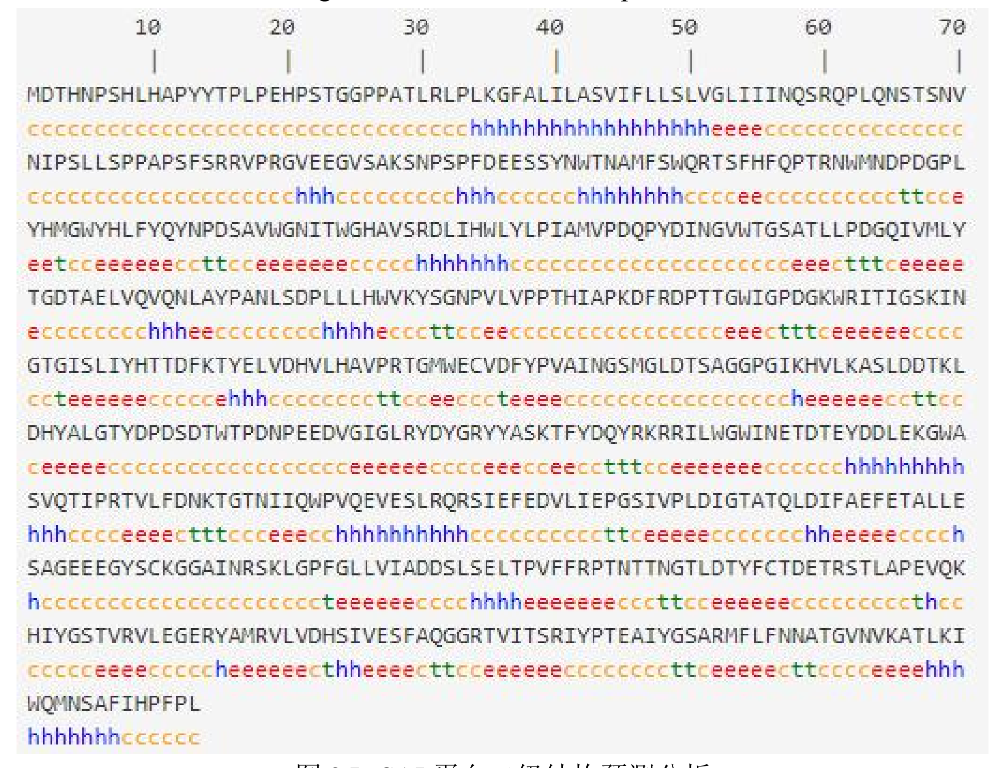


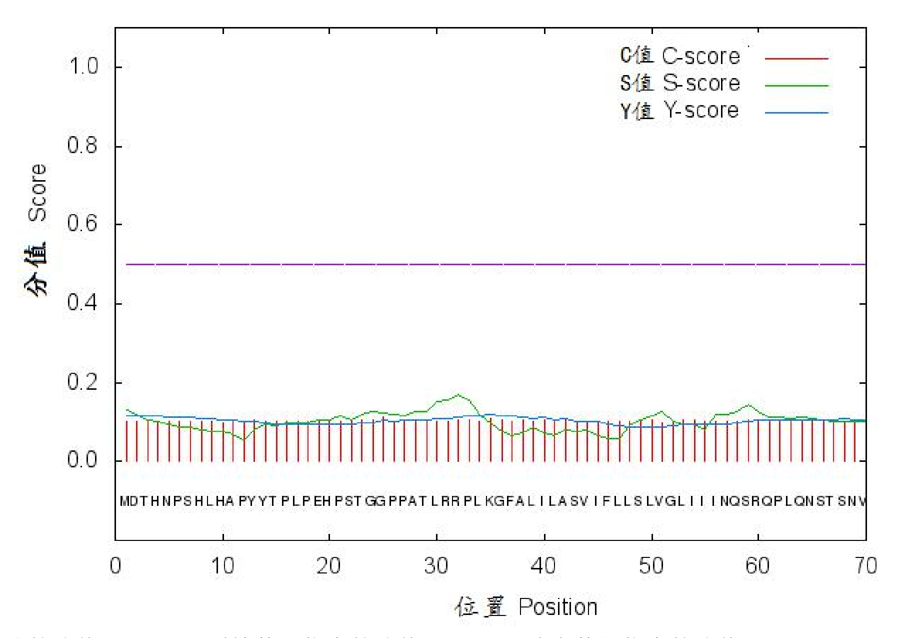
图 2 LcSAI 蛋白二级结构预测分析

Fig. 2 Prediction analysis of LcSAI protein secondary structure

通过在线软件 ProtScale 的对 LcSAI 进行亲水/疏水性分析(算法: Kyte & Doolittle，其中>0 表示疏水性，数值越大蛋白疏水性越强; <0 表示亲水性，数值越大蛋白亲水性越强)。整体分析结果表明，LcSAI 蛋白存在明显的疏水区和亲水区，虽然蛋白多肽链的 43、44 位氨基酸得分（3.156）比 395 位的最低值（-2.689）要高，但亲水性氨基酸数目（392 个）比疏水性氨基酸要多（243 个），结果与一级结构预测一致，为亲水性蛋白。

2.2 LcSAI 蛋白信号肽预测和跨膜结构分析

信号肽大多位于氨基酸序列的 N 端的短肽链，一般长度为 5~30 个氨基酸。利用在线分析工具 SignalP 4.1 Server 的 euk network 算法对 LcSAI 蛋白是否含有信号肽进行预测(图 3)，显示 LcSAI 蛋白没有信号肽，属于非分泌蛋白，由此推测 LcSAI 蛋白在细胞质中合成，没有蛋白转运功能。



注: S-score: 信号肽的分值; C-score: 原始剪切位点的分值; Y-score: 综合剪切位点的分值

Note: S-score: score of signal peptide; C-score: score of original shear site; Y-score: score of comprehensive shear site

图 3 LcSAI 蛋白信号肽预测

Fig.3 LcSAI protein signal peptide prediction

跨膜区即蛋白质序列中跨越细胞膜的区域，通常为α-螺旋结构，约 20~25 个氨基酸残基，构成跨膜区蛋白的氨基酸大部分是疏水性氨基酸。利用 TMHMM 在线软件对 LcSAI 蛋白进行跨膜结构分析，结果表明(图 4)，LcSAI 在 43-63 氨基酸位置产生 1 个跨膜区。

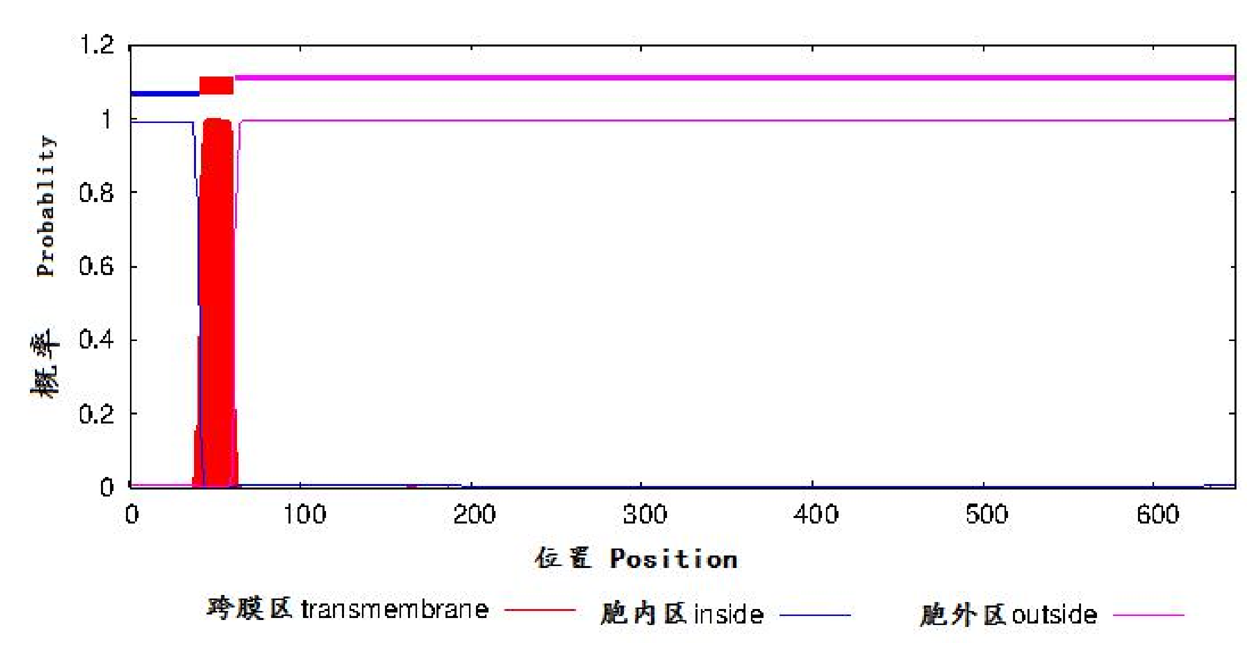


图 4 LcSAI 蛋白跨膜结构预测

Fig.4 Prediction of LcSAI protein transmembrane structure

2.3 LcSAI 蛋白磷酸化位点和保守结构域分析

利用 NetPhos 3.1 Server 在线软件分析 LcSAI 磷酸化位点，结果如图 5 所示，可能的蛋白激酶磷酸化位点中有 30 个丝氨酸(Ser)、26 个苏氨酸(Thr)、10 个酪氨酸(Tyr)。

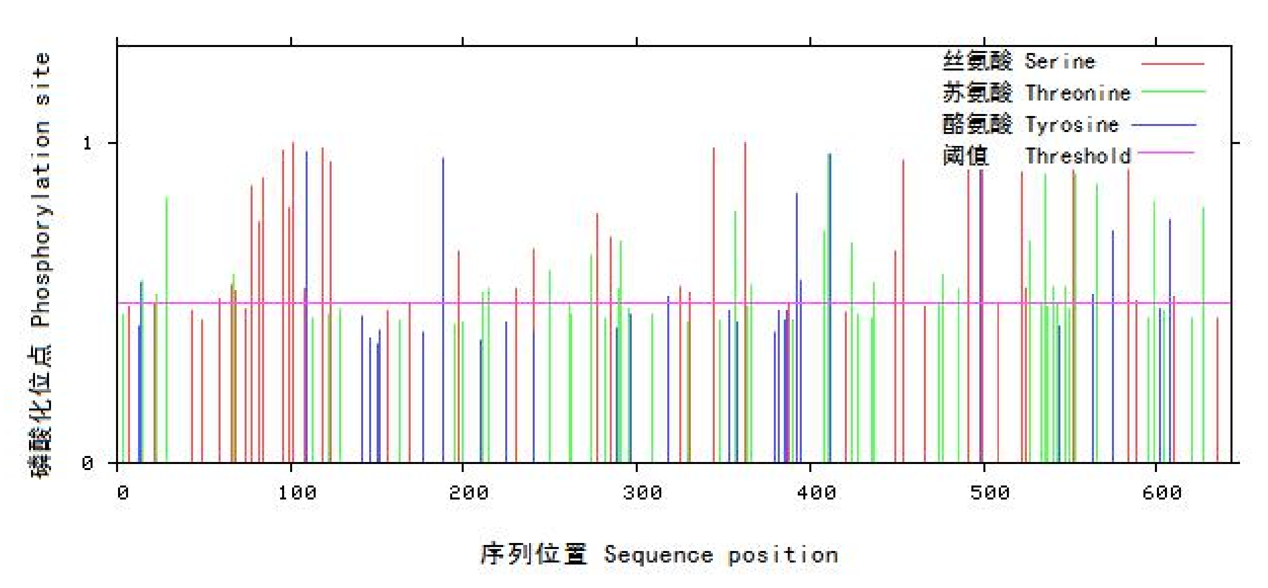


图 5 LcSAI 磷酸化位点分析

Fig.5 LcSAI phosphorylation site analysis

利用 NCBI CONSERVED Domain Architecture Retrieval Tool 工具对 LcSAI 的保守结构域进行分析(图 6)，结果表明该蛋白包含两个保守结构域，位于 N-端的 Pfam DUF3357 结构域(13-117)和 Glyco_32 结构域(125-593)，属于糖基水解酶基因家族 32 超家族。

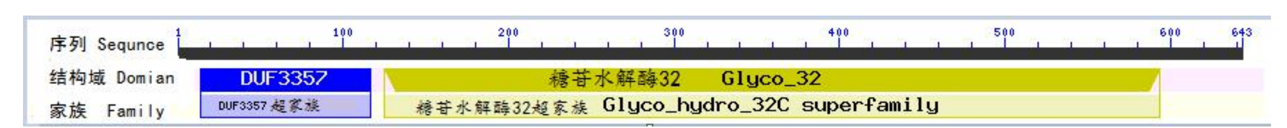


图 6 LcSAI 保守结构域分析

Fig.6 LcSAI Conserved Domain Analysis

2.4 LcSAI 系统进化关系分析

通过 NCBI blast 比对分析发现，荔枝 LcSAI 与龙眼(AKJ70978)、漆树(AHB33921)、柑橘(XP_024046763)、巴西橡胶树(XP_021687094)、木薯(AFH77956)、桃(XP_007218854)、可可(XP_017972919)、苹果(AFU56882)、沙梨(BAG30919)、葡萄(XP_002265534)SAI 氨基酸序列的同源性分别为 95.18%、79.53%、77.81%、77.8%、77.48%、70.85%、75.43%、69.94%、70.35%、65.2%。将荔枝与以上 10 个物种进行氨基酸序列多重比对，结果表明荔枝 LcSAI 与其它物种 SAI 蛋白有高度的保守性，其中 5'N 端 Pfam DUF3357 结构域(13-117)保守性较低，不同物种间保守的 Glyco_32 结构域(125-593)也存在一定的差异。将以上不同物种的 SAI 蛋白利用 MEGA 6.0 软件构建系统进化树分析(图 7)，LcSAI 与同为无患子科的龙眼 SAI 亲缘关系最近，为直系同源基因。苹果、梨、桃同为蔷薇科的 SAI 进化聚类在一起，亲缘关系较近；同为大戟科的木薯和巴西橡胶树 SAI 亲缘关系较近。

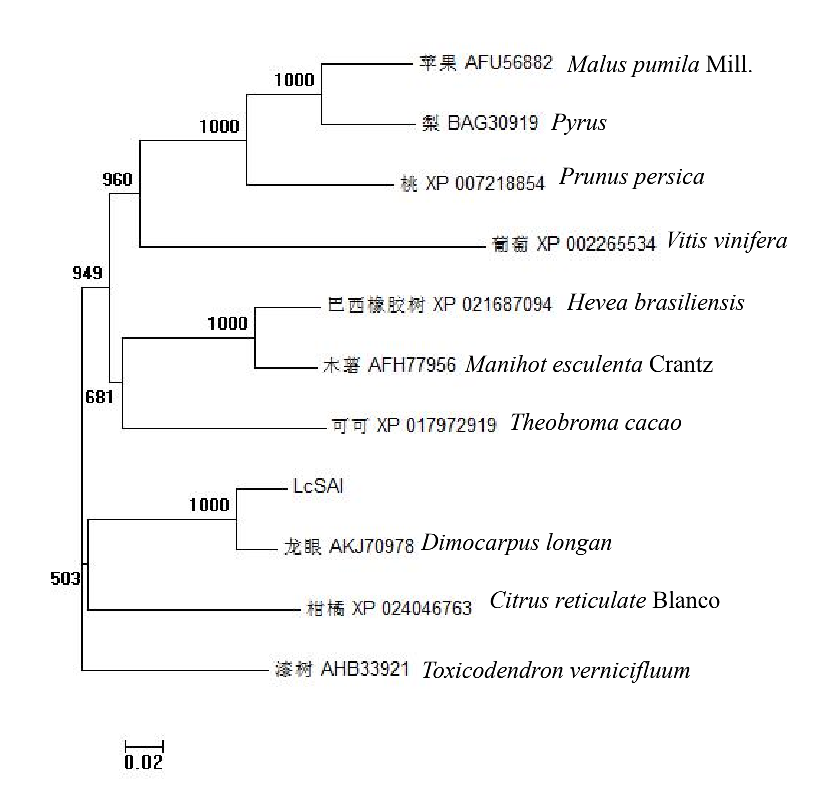


图 7 荔枝 LcSAI 氨基酸序列与其它物种进化关系分析

Fig.7 Analysis of the relationship between the amino acid sequence of litchi LcSAI and other species

2.5 *LcSAI* 在不同组织部位及果实不同发育阶段表达分析

利用 qRT-PCR 技术对 *LcSAI* 在妃子笑荔枝不同组织部位及果实不同发育阶段进行相对表达分析，结果表明：妃子笑中雄花中的表达量最高，其次是根、嫩茎、嫩叶、种子，雌花、果皮、老叶中表达量

相对较低（图 8）；果实不同发育阶段果肉中 *LcSAI* 的表达量在第 2 周达到峰值，随后 *LcSAI* 的表达量在第 3 周急剧下降，在第 4/5/6 周表达量逐渐升高，在果实发育的第 8 周 *LcSAI* 的表达量降至最低（图 9）。

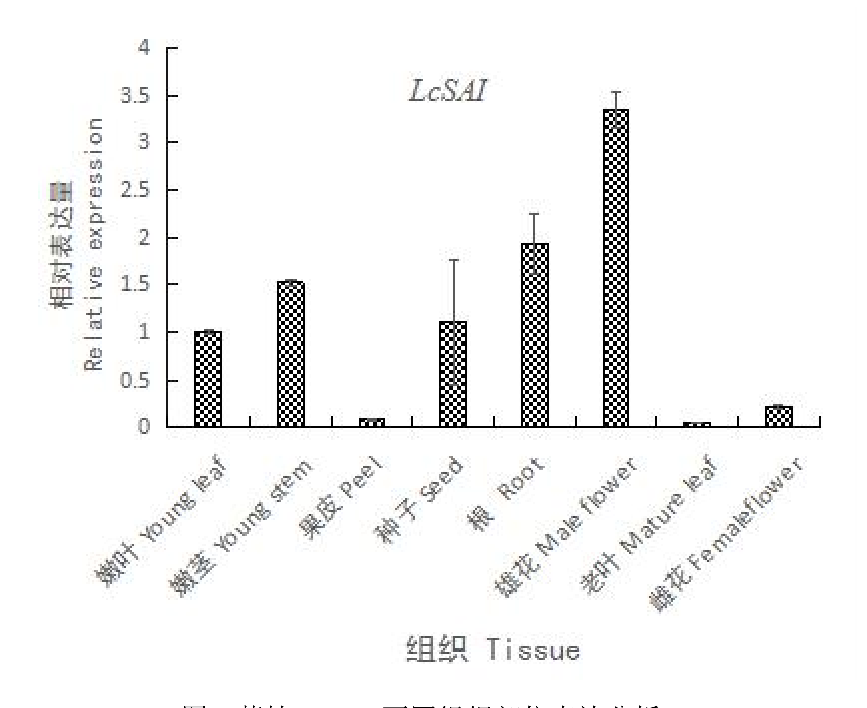


图 8 荔枝 *LcSAI* 不同组织部位表达分析

Fig. 8 Analysis of different tissue expression of *LcSAI*

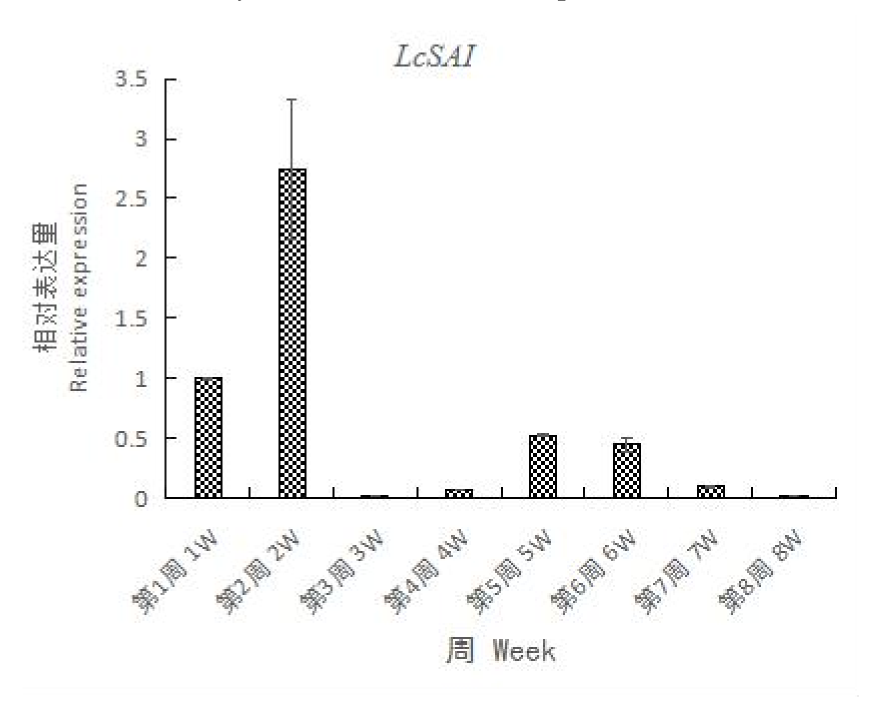


图 9 荔枝 *LcSAI* 果实不同发育阶段表达分析

Fig.9 Analysis of litchi pulp different developmental stages expression of *LcSAI*

3 结论与讨论

酸性转化酶为多基因编码蛋白，在调控液泡的库活力、渗透压、糖信号、蔗糖积累、蔗糖浓度、对外界胁迫、激素和细胞伸长等发挥作用(Lu et al., 2017; Chikov et al., 2015; Zhang et al., 2014; Kulshrestha et al., 2013)。前人借助生物信息学手段对枸杞(雷建武等, 2014；王丽娟等，2014)、番木瓜(严丹凤等, 2014）、甘蔗（牛俊奇等，2013）石斛（孟衡玲等，2017）的酸性性转化酶基因进行了系统的生物信息学和表达分析。本研究利用生物信息学手段对已克隆荔枝果实酸性转化酶的基本理化性质、亚细胞定位、跨膜结构、信号肽、磷酸化位点、系统进化等进行预测分析，该基因为亲水性蛋白、包含一个跨膜结构、不含信号肽，结果与在甘蔗(牛俊奇等, 2014)、枸杞(雷建武等, 2014)、番木瓜(严丹凤等, 2014)的研究一致。LcSAI 蛋白包含两个保守结构域，位于 N-端的 Pfam DUF3357 结构域(13-117)和 Glyco_32 结构域(125-593)，属于糖基水解酶基因家族 32 超家族，LcSAI 编码氨基酸与龙眼、柑橘等序列相似性很高，相似性范围在 85%~95%，NJ 法聚类结果显示，荔枝 SAI 与龙眼酸性转化酶为直系同源基因，而与其他植物苹果、梨、桃、葡萄亲缘关系较远。

酸性转化酶基因在植物不同发育阶段以及不同组织中呈组成型表达，但不同组织间存在表达量的差异，例如枸杞 *LbSAI* 在各组织中表达量水平为花>果柄>果实>茎>叶>根（王丽娟等，2014）；铁皮石斛中不同发育阶段不同组织的 *SAI* 表达量差异较大，叶片中 *SAI* 表达量逐年下降，而根中 *SAI* 表达量则逐年上升，茎中 *SAI* 的表达量在第二年达到峰值（孟衡玲等，2017）；甘蔗 *SoSAI1* 在伸长期至生理成熟前期，未成熟的幼叶和成熟叶的的表达量高于老叶，而茎在 4 个发育时期总体上表现为幼茎＞成熟茎＞老茎(牛俊奇等, 2014)。本研究表明 *LcSAI* 在不同组织中均有表达，但表达量存在差异，具有组织特异性，其中在雄花、根、种子、嫩茎、嫩叶中表达量较高，而在雌花、老叶、果皮中表达量最低；*LcSAI* 的表达在果实不同发育阶段具有特异性。该结果与甘蔗中研究结果相似，幼嫩的组织 *LcSAI* 表达量较高，酸性转化酶主要在快速生长的幼嫩组织和器官中酶活性高呈正相关相一致(牛俊奇等, 2014)。本研究基于转录组数据对妃子笑 LcSAI 进行了系统的生物信息学和表达分析，对今后深入研究荔枝 SAI 基因功能及糖积累机制奠定基础。

参考文献:

AN XM, XU CJ, ZHAGN SL, 2001. Cloning and sequence of acid invertase gene fragments from Citrus[J]. J Fruit Sci, 18(4): 189-192.[安新民, 徐昌杰,张上隆, 2001. 柑橘酸性转化酶基因片段的克隆[J]. 果树学报, 18(4): 189-192.]

AN XM, ZHAGN ZY, TAO J, et al., 2003.Cloning and analysis of the vacuolar acid invertase gene fragment from Malus pumila[J]. J Cell Biol, 25(6): 398-401. [安新民, 张志毅, 陶俊, 等, 2003.苹果液泡酸性转化酶基因片段的克隆及序列分析[J]. 细胞生物学杂志, 25(6): 398-401.]

CHIKOV VI, AKHTYAMOVA GA, BATASHEVA S.N., et al., 2015. Effect of silencing of the apoplastic invertase gene on photosynthesis in tomato[J]. Russ J Plant Physiol-engl Tr, 62(1): 39-44.

KULSHRESTHA S, TYAGI P, SINDHI V, et al., 2013. Invertase and its applications-a brief review[J]. J Pharm Res, 7(9): 792-797.

LEI JW, MEN HQ, LI HX,,ET AL., 2014. Bioinformatics analysis of acid invertase gene of *Lycium bararum* fruit[J]. Ningxia J Agric Fores Sci Technol, 55（12）: 17-19, 22. [雷建武, 门惠芹, 李浩霞, 等, 2014. 枸杞果实酸性转化酶基因生物信息学分析[J]. 宁夏农林科技, 55(12): 17-19.]

LU L, LIANG JJ, CHANG X., et al., 2017. Enhanced vacuolar invertase activity and capability for carbohydrate import in GA-treated inflorescence correlate with increased fruit set in grapevine[J]. Tree Genet Genomes, 13: 21.

MENG HL, ZHANG W, LU BY, ET AL., 2017. Cloning and expression analysis of soluble acid invertase gene from Dendrobium officinale[J]. J S Chin Agric Univ, 38(2) : 81-85. [孟衡玲，张薇，卢丙越，等, 2017. 铁皮石斛可溶性酸性转化酶基因克隆与表达分析[J]. 华南农业大学学报, 38(2) : 81-85]

NIU JQ, WANG AQ, HUANG JL, ET AL., 2013. Cloning and expression analysis of a soluble acid invertase gene (SoSAI1) of sugarcane.[J]. Chin Agric Sci, 17(1): 65-76. [牛俊奇，王爱勤，黄静丽，等, 2013. 甘蔗可溶性酸性转化酶（SOSAI1）基因的克隆及表达分析[J]. 中国农业科学,46(24): 5248-5260.]

Sturm A, Chrispeels M J. 1990. cDNA cloning of carrot extracellular beta-fructosidase and its expression in response to wounding and bacterial infection[J]. Plant Cell, 2(11): 1107-1119.

SUN W, JIANG J, LI TL,ET AL., 2009.Expression analysis of acid Invertase gene family in the development of tomato fruits and under adversity stress[J]. Acta Agri Boreal-Sin, 24(3): 37-40. [孙威，姜晶，李天来，等. 2009. 酸性转化酶基因家族在番茄果实发育及逆境胁迫下的表达分析[J]. 华北农学报, 2009, 24(3): 37-40.]

WANG HC, HUANG HB, HUANG XM, et al., 2006, Sugar and acid compositions in the arils of *Litchi chinensis* Sonn.: cultivar differences and evidence for the absence of succinic acid[J]. J Hortic Sci Biotechnol, 81(1): 57-62.

WANG HC, HUANG HB, AND HUANG XM, 2003. Sugar accumulation and related enzyme activities in the litchi fruit of 'Nuomici' and 'Feizixiao'[J]. Acta Hortic Sin, 30(1): 1-5. [王惠聪，黄辉白，黄旭明, 2003, 荔枝果实的糖积累与相关酶活性[J]. 园艺学报, 30(1): 1-5.]

WANG LJ, ZHAO H, WANG YC, et al., 2014. Cloning and tissues expression analysis of soluble acid invertase gene from *Lycium barbarum* L.[J]. N Hortic, (1): 86-90. [王丽娟，赵辉，王彦才，等. 2014. 枸杞酸性转化酶基因的克隆及组织表达分析[J]. 北方园艺, (1): 86-90.]

YAN DF, WU XH, GENG MT, et al., 2014. Gene family prediction and preliminary analysis of bioinformatics acid invertase in *Carica papaya*[J]. Genomic Appl Biol, 33(2): 374-381. [严丹凤，吴晓慧，耿梦婷，等, 2014. 番木瓜酸性转化酶基因家族预测及生物信息学初步分析[J]. 基因组学与应用生物学, 33(2): 374-381.]

YANG ZY, WANG TD, WANG HC, et al., 2013. Patterns of enzyme activities and gene expressions in sucrose metabolism in relation to sugar accumulation and composition in the aril of *Litchi chinensis* Sonn.[J]. J Plant physiol, 170(8): 731-740.

YANG ZY, WANG HC, ZHAO ZC, et al., 2012. A comparative study on the sugar accumulation and composition in the aril of litchi from different regions[J]. Chin J Trop Crop, 33(8): 1398-1402. [杨转英，王惠聪，赵志常，等, 2012. 不同产地荔枝果实糖含量及组成的比较[J]. 热带作物学报, 33(8): 1398-1402.]

ZHANG L, PAN YX, LV W, et al., 2014. Physiological responses of biomass allocation, root architecture, and invertase activity to copper stress in young seedlings from two populations of *Kummerowia stipulacea* (maxim.) Makino[J]. Ecotoxicol Environ Safety, 104: 278-284.